Tome 72, fascicule 1 (à la mémoire d'Emile Guyénot), nº 4. — Avril 1965

Etude comparative de la biologie de *Borrelia duttoni* et de *Borrelia tillae* *

par

R. GEIGY et A. ÆSCHLIMANN **
Institut Tropical Suisse, Bâle

Avec 2 figures dans le texte

I. HISTORIQUE

La découverte, en octobre 1959, d'une Borrélie nouvelle chez *Ornithodorus zumpti*, un Argaside des terriers de rongeurs du Sud de l'Afrique, a relancé le problème de l'origine de la spirochétose humaine sur ce continent. Selon Zumpt et Organ (1961), les propriétés sérologiques de cette Borrélie diffèrent suffisamment de celles de *B. duttoni* pour que ces auteurs se soient crus autorisés de lui accorder le statut d'espèce sous le nom de *B. tillae.* Quoiqu'il faille accepter, lorsqu'il s'agit de récurrente, les tests sérologiques avec grande prudence (Schuhardt et Wilkerson, 1951), nous transcrivons ci-dessous les conclusions de Zumpt et Organ, conclusions exprimées à la suite des expériences sérologiques effectuées par le Dr Wolstenholme. « The results obtained ... with sensitized embryonated chick-cell agglutination and lysis tests ... seemed to indicate a close relationship between the two strains. The complement-fixation tests, however, showed a difference, although some group reaction had taken place. Dr. Wolstenholme's conclusion was—that the two strains differ, but contain some group antigen. »

* Je dédie ce travail, réalisé en collaboration avec un de mes élèves, à la mémoire de mon cher et regretté maître, le Professeur Emile Guyénot, en témoignage de ma gratitude et de notre admiration. R. Geigy.

** La présente publication a fait l'objet d'une communication lors du « First International Congress of Parasitology », Rome, 21-26 septembre 1964.

Ce que nous retiendrons de ce texte, c'est que, sérologiquement, *B. duttoni* et *B. tillae* sont des souches fort proches l'une de l'autre.

Zumpt (1962), en plus de la souche découverte sur *O. zumpti*, a pu isoler six autres souches de *B. tillae* à partir du cerveau de rats sauvages ou demi-sauvages (3 *Rhabdomys pumilio* et 3 *Rattus natalensis*). La preuve était ainsi faite que ces rongeurs jouent le rôle de réservoir naturel pour ce spirochète.

D'autre part, il ressort de nombreux travaux (en particulier Geigy, Mooser et Weyer, 1956; Geigy et Aeschlimann, 1957) qu'aucun réservoir pour *B. duttoni* n'a encore pu être découvert et il est actuellement admis que le vecteur, *O. moubata*, est seul à héberger ce spirochète.

Utilisant les résultats de ces diverses observations, Zumpt, en 1959 et en 1962, a proposé l'hypothèse suivante:

B. tillae est un spirochète de rats sauvages et de rats semi-commensaux de l'homme. Son vecteur normal est *O. zumpti*. Arrivé dans le voisinage humain par l'entremise de son réservoir, ce spirochète se serait secondairement adapté à la tique *O. moubata* (un Argaside que l'on trouve fréquemment dans les huttes indigènes), devenant ainsi le *B. duttoni* classique que nous connaissons aujourd'hui dans l'est africain.

Afin de vérifier cette hypothèse, il était dès lors nécessaire de comparer les propriétés biologiques des deux espèces de spirochètes dans le but d'estimer leur degré de parenté. Le présent travail est le résultat de différentes expériences que nous avons menées avec *B. tillae* et *B. duttoni*, la tique *O. moubata* et, comme mammifères réceptifs, la souris blanche, le rat blanc, le mérion, le hamster et le cobaye.

II. RELEVÉS EXPÉRIMENTAUX [1]

1. Comportement de *B. tillae* et de *B. duttoni* dans le sang de la souris blanche

Les souris sont infectées par injection intrapéritonéale d'une suspension d'organes de tiques broyés dans une solution physiolo-

[1] Nous avons employé, pour nos travaux, une souche de *B. tillae* que le Dr Zumpt nous a envoyée sur *O. zumpti*. Quant à *B. duttoni*, nous maintenons

gique. La figure 1 résume le comportement des spirochètes dans le sang de la souris. On voit que la courbe de *B. tillae* et celle de *B. duttoni* (P_3) ont un dessin très comparable alors que *B. duttoni* (W) a développé une spirochétose beaucoup plus faible.

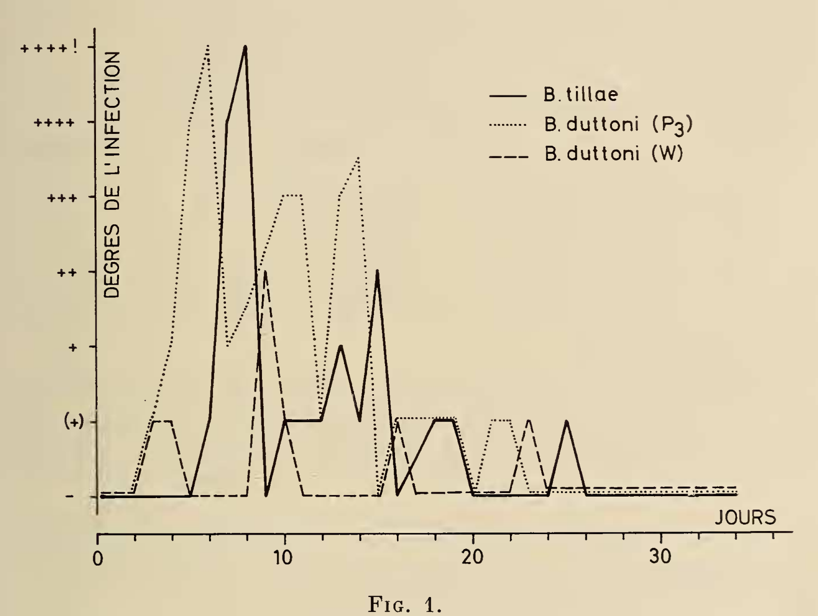


Fig. 1.

Comportement de deux souches de *B. duttoni* et d'une souche de *B. tillae* dans le sang de la souris blanche. (Pour la signification des symboles portés en abscisse, voir page 94).

Cette observation appelle quelques commentaires. Nous avons souvent vérifié que des souches de *B. duttoni* d'origine différente se comportent différemment vis-à-vis de la souris blanche, même dans le cas où les précautions les plus grandes ont été prises pour standardiser les conditions d'expériences: choix de souris de poids identique; injection intrapéritonéale d'une suspension contenant le broyage d'un même nombre de tiques infectées; utilisation de tiques infectées le même jour, au même stade de leur évolution, etc. Certaines de ces souches ont développé de fortes spirochétoses, d'autres de faibles spirochétoses. On serait alors tenté de parler

---

à l'Institut Tropical Suisse de Bâle plusieurs souches de ce spirochète sur *O. moubata*. Ces souches proviennent de divers villages du district de l'Ulanga (Tanganyika).

de souches virulentes et de souches peu virulentes. Ce langage se justifierait pleinement si les souches, au cours d'expériences répétées, se comportaient toujours de manière identique. Cela n'est cependant pas le cas. Ainsi, une même souche peut manifester une grande variabilité de comportement vis-à-vis de la souris blanche. L'exemple de la souche P_3 est particulièrement révélateur. Cette souche, réputée comme très virulente, a, brusquement, à un certain moment, montré un comportement transitoire comparable à celui de la souche W de la figure 1, après plusieurs comportements tels que celui de la souche P_3 de la même figure. Les raisons de ces changements nous échappent encore [1].

Nous attirons l'attention du lecteur sur ces observations afin de prouver qu'il ne faut pas juger de la virulence d'une souche de *B. duttoni* uniquement au vu des courbes obtenues lors d'infections de la souris blanche.

Ainsi, d'après les graphiques de la figure 1, nous pouvons dire que *B. tillae* a eu, lors de notre expérience, un comportement identique à celui d'une souche momentanément virulente de *B. duttoni.*

2. Comportement de *B. tillae* et de *B. duttoni* conservés sur souris blanches uniquement par passage sanguin effectué tous les deux jours

Lorsque l'on désire avoir un très grand nombre de *B. duttoni* dans le sang de la souris, il est nécessaire de procéder tous les deux jours à un passage sanguin de souris à souris. Le sang infecté est obtenu par ponction cardiaque. L'injection aux souris saines doit être concentrée: 0,4 cc de sang + 0,1 cc de solution physiologique. Après un très petit nombre de passages, l'infection dans le sang périphérique est très riche (fig. 2, P_1). On peut la maintenir à ce degré, toujours par passages, pendant environ une vingtaine de jours. Alors, brusquement, l'infection cesse: les spirochètes, malgré la poursuite des passages, n'apparaissent plus, s'ils apparaissent, que sporadiquement. La souche est comme cassée.

Il nous intéressait de savoir si des résultats identiques pouvaient être obtenus avec *B. tillae.* La figure 2 résume les expériences.

---

[1] Inutile de rappeler que la perte de la virulence, due à des passages transovariens répétés (v. Geigy et Aeschlimann, 1964), est un phénomène différent.

On voit que les souris de la souche P_3 ont péri après le 5e passage déjà, au sommet de la spirochétémie. Par contre, dans le cas de P_1, 10 passages ont pu être effectués, après quoi la souche a été perdue. Disons que ce dernier cas est le cas classique, celui que l'on rencontre le plus souvent lors de telles manipulations.

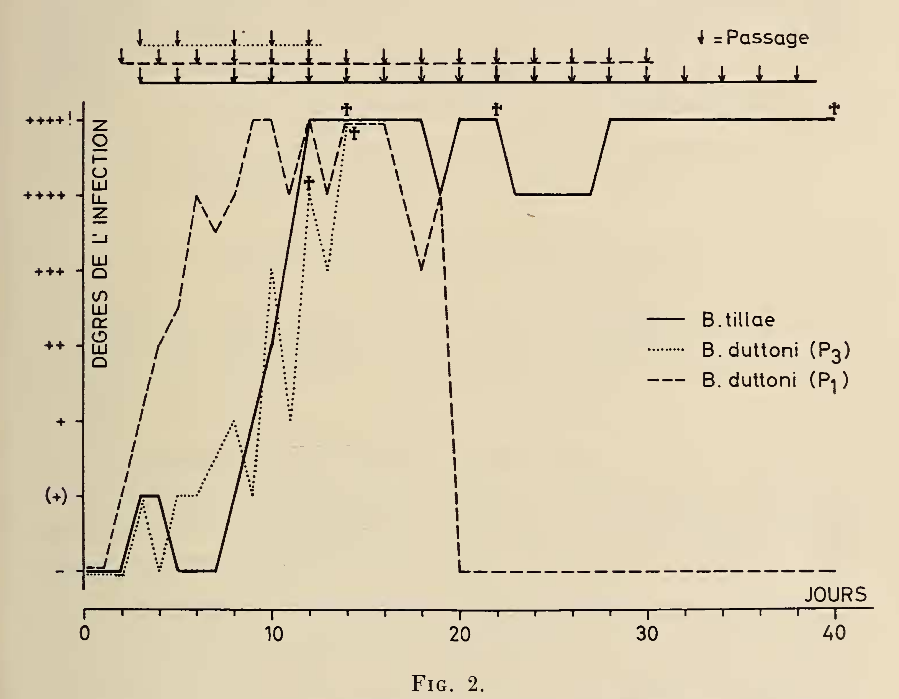


Fig. 2.

Comportement de deux souches de *B. duttoni* et d'une souche de *B. tillae* conservées par passages sanguins de souris à souris. (Pour la signification des symboles portés en abscisse, voir page 94. † = souris morte).

En ce qui concerne *B. tillae*, les passages ont pu être poursuivis jusqu'au 40e jour (soit 18 passages), sans perdre la souche. Certains animaux ont succombé au cours de l'expérience comme chez *B. duttoni*. Et c'est d'ailleurs par la mort simultanée des deux souris que l'expérience a été interrompue sans que la cassure dans le maintien de la haute spirochétémie se soit réalisée.

Ainsi donc, *B. tillae* et *B. duttoni* ont montré, au cours de cette expérience, des comportements quelque peu différents. Une si longue persistance de *B. tillae* dans le sang de la souris, lors du passage sanguin régulier, ne s'est jamais manifestée chez *B. duttoni*.

3. Susceptibilité de divers rongeurs de laboratoire à *B. tillae* et *B. duttoni*

Nous avons tenté d'infecter divers rongeurs en leur injectant dans le péritoine du sang de souris riche en spirochètes. Les résultats de nos essais ont été portés dans le tableau ci-dessous (+++ = animal très sensible aux Borrélies; ++ = sensible; + = peu sensible; — = réfractaire):

Animaux infectés	B. tillae	B. duttoni
Souris blanche	+++	+++
Hamster	++	++
Rat blanc	+	+
Mérion	+	+
Cobaye	—	—

Souris blanche: Il est inutile d'insister sur la sensibilité de cet animal. La souris blanche est l'animal réceptif par excellence pour les deux espèces de spirochètes. Ajoutons que le cerveau d'une souris infectée, mais n'ayant plus montré de *B. tillae* dans son sang depuis deux mois, broyé et injecté à deux souris saines, a provoqué chez ces dernières une spirochétose normale. Le résultat de l'expérience correspond aux observations de Zumpt (v. p. 1). Le rôle de réservoir possible joué par des Muridés est mis ainsi expérimentalement en évidence. Rappelons que *B. duttoni* peut se maintenir également pendant fort longtemps dans le cerveau de la souris.

Hamster: Le hamster a montré pour les deux espèces de Borrélies une sensibilité nettement moindre que la souris. Les spirochètes, décelés à l'examen au fond noir, n'ont jamais pullulé dans le sang de l'animal. Il n'y a eu qu'une seule rechute.

Rat blanc: Nous avons travaillé avec des animaux jeunes, pesant de 80 à 100 g. L'infection de *B. tillae*, moyennement forte au lendemain de l'injection, a disparu rapidement pour ne plus revenir. Ce comportement correspond à celui de *B. duttoni*, tel que les auteurs l'ont observé lors de leur travail de 1957. Le rat blanc jeune n'est donc que fort peu susceptible aux deux Borrélies.

Meriones lybicus: (Poids: 45 à 60 gr.): Les résultats sont identiques à ceux observés chez le rat blanc. Ils correspondent également à ceux de notre travail de 1957. Donc animal peu susceptible à *B. duttoni* et *B. tillae.*

Cobaye: Conformément aux prévisions, toutes les tentatives d'infecter cet animal (y compris de jeunes exemplaires) restèrent vaines. Le fait était déjà connu pour *B. duttoni.*

Ainsi, on peut affirmer que les deux espèces de Borrélies se comportent de manière identique vis-à-vis du hamster, du rat blanc, du mérion et du cobaye.

4. Essais de transmission de *B. tillae* par *O. moubata*

Plusieurs essais ont été tentés et couronnés de succès, soit par morsure de tiques, soit par injection intrapéritonéale de broyage d'organes infectés.

a) *Essais de transmission par morsure de tique.*

Essai 1: Le 8.3.1962 trois *O. moubata*, préalablement infectés de *B. tillae* par le Dr Zumpt, à Johannesburg, ont été nourris à Bâle sur une souris saine.

Le 13.3.1962, le sang de cette souris, obtenu par ponction cardiaque, est injecté à deux autres souris.

Le 15.3.1962, les deux souris montrent une pullulation de spirochètes dans le sang. Le passage sanguin semble donc avoir activé la multiplication des Borrélies et la souche « explose » littéralement dans le sang du rongeur.

Essai 2: Un lot de plusieurs *O. moubata* (sains!) est alors infecté sur ces souris.

Puis ces animaux sont conservés jusqu'au 5.12.1963. Nourris à cette date sur deux souris blanches, celles-ci développent une forte spirochétémie le 13.12.1962, après qu'un passage sanguin eût été réalisé. Là également la souche « explose », passant de zéro à un nombre énorme de spirochètes par goutte de sang, cela en 24 heures.

Essai 3: Quatre lots de nymphes d'*O. moubata*, infectés de *B. tillae* le 15.3.1962, se gorgent du sang de quatre souris le

12.12.1963. Les résultats de cet essai sont consignés dans la tabelle suivante:

(+) = 1 spirochète par champ microscopique
+ = 2 spirochètes » » »
++ = 3-5 » » » »
+++ = 5-10 » » » »
++++ = 10 et plus spirochètes par champ microscopique
++++! = Pullulation des spirochètes avec formation de pelotes
P = Passage sanguin

Date	Souris A	Souris B	Souris C	Souris D
12.12.63	Nutrition de 42 nymphes	Nutrition de 24 nymphes	Nutrition de 7 nymphes	Nutrition de 13 nymphes
	Contrôle du sang des souris			
13	—	—	—	—
14	—	—	—	—
15	—	—	—	—
16	—	—	—	—
17	—	P —	—	P —
18	(+)	—	—	—
19	(+)	—	—	—
20	(+)	—	—	—
21	(+)	—	—	—
22	—	—	—	—
23	(+)	—	—	—
24	++++	—	—	—
25	++	—	—	—
26	(+)	—	(+)	—
27	(+)	—	++++	—

Ainsi sur quatre souris, deux sont devenues positives et deux sont restées négatives malgré un passage sanguin. La possibilité de transmission de *B. tillae* par *O. moubata* est donc démontrée.

b) *Essais d'infection de la souris par injection de broyage d'organes de tiques.*

La dissection, le 12.12.1963, de 21 tiques infectées le 15.3.1962, a dénoncé la présence de *B. tillae* dans le ganglion et la glande salivaire. Comme il s'agissait de nymphes jeunes ou moyennes, nous

n'avons pas examiné la glande génitale, encore rudimentaire à ce stade de l'évolution de l'Ornithodore. L'injection du broyage d'organes infectés dans le péritoine de souris blanches provoque chez ces dernières le développement de spirochétoses nettes. La tabelle suivante donne le détail des dissections et résume les résultats obtenus chez les souris après injection d'organes broyés (mêmes symboles que pour la tabelle ci-dessus).

N° de la tique disséquée	Ganglion	Glande salivaire	Emulsion sur souris	Résultats
1	—	—		
2	+++	—		
3	+++	+++		
4	(+)	(+)		
5	++ (+)	—		
6	(+)	+	1 souris	positif
7	++++	++	1 souris	positif
8	+++	++		
9	++++	+++	1 souris	positif
10	+	++		
11	(+)	—		
12	(+)	(+)		
13	?	(+)		
14	++	—		
15	++	(+)		
16	++++	(+)		
17	+ (+)	(+)		
18	+++	—		
19	+++	++ (+)	1 souris	négatif
20	+	—		
21	+++	++	1 souris	positif.

Les dissections effectuées indiquent que le ganglion est l'organe le plus constamment et le plus largement infecté. Ceci correspond aux observations faites avec *B. duttoni* et *O. moubata* (Aeschlimann 1958; Sarasin 1960). D'autre part, trois des quatre souris injectées d'organes positifs ont développé une spirochétose.

En résumé, les expériences réunies dans ce chapitre montrent que *B. tillae* survit très bien dans les organes d'*O. moubata* et qu'il s'y comporte comme *B. duttoni.*

Afin de compléter nos connaissances à ce sujet, nous nous proposons, lors d'un travail ultérieur, d'étudier les possibilités de transmission transovarienne de *B. tillae* par son vecteur normal, *O. zumpti*, ainsi que par *O. moubata.*

III. Résumé des observations et discussion

L'examen des propriétés respectives de *B. tillae* et *B. duttoni* a établi la proche parenté des deux souches. Les différences enregistrées sont minimes. Elles sont:

1) D'ordre sérologique. Un collaborateur de Zumpt a constaté une différence lors du test de la fixation du complément.

2) D'ordre biologique. Vis-à-vis de la souris blanche, une seule différence notable a été enregistrée: avec *B. tillae*, on peut maintenir, plus longuement qu'avec *B. duttoni*, un haut degré d'infection chez la souris par l'usage régulier du passage sanguin. Soulignons cependant combien cette différence est artificielle puisqu'elle résulte d'une pure manipulation de laboratoire.

Résumons maintenant les points communs:

1) Hormis la différence soulignée par Zumpt et rapportée ci-dessus, il existe à d'autres égards une proche parenté sérologique entre les deux souches (voir p. 1).

2) *B. tillae* et *B. duttoni* sont susceptibles d'infecter, outre la souris blanche, le hamster, le rat blanc et le mérion. L'infection est moyenne chez le hamster, faible chez le rat blanc et le mérion.

3) Le cobaye est réfractaire aux deux espèces de Borrélies.

4) *B. tillae* se développe normalement dans les organes d'*O. moubata* (cerveau, glandes salivaires), comme le fait *B. duttoni*.

5) *B. tillae* peut être transmis à la souris blanche soit par la morsure d'*O. moubata*, soit par l'injection intrapéritonéale d'une émulsion des organes de cette tique.

Ainsi, au laboratoire, *B. tillae* et *B. duttoni* se comportent de manière quasiment identique. Du seul point de vue de leur biologie, et tenu compte de leur distribution géographique différente comme de leur vecteur différent, on pourrait admettre que nous sommes en présence de deux variétés d'un même spirochète.

Il ne faut cependant pas oublier que *B. tillae* a été découvert aussi bien sur l'arthropode vecteur que sur le mammifère sauvage. *B. duttoni*, par contre, n'a jamais été trouvé que dans les organes d'*O. moubata.* Malgré d'intenses recherches, un mammifère servant de réservoir à cette Borrélie n'a pu être découvert. *B. duttoni*, selon nos connaissances actuelles, semble avoir perdu son réservoir à sang chaud, si elle en eût jamais un.

Ces réflexions confirment en quelque sorte la théorie de Zumpt qui voit en *B. tillae* le spirochète ayant donné naissance à *B. duttoni.* Rappelons que Heisch (1950 et 1952) avait déjà suggéré que l'origine de *B. duttoni* pourrait bien se cacher chez une Borrélie de rongeur. Heisch écrivait (1950, p. 271): « It is, however, possible that *Sp. duttoni* may have evolved from a rodent spirochaete.»

Cet auteur suggérait qu'une Borrélie de rongeur sauvage aurait pu rencontrer un *O. moubata* de brousse et s'y adapter.[1] Les Ornithodores auraient alors importé le spirochète avec eux lors de leur installation dans les huttes des indigènes de l'Est africain. Malheureusement, aucune découverte de *B. duttoni*, ni dans les *O. moubata* de brousse, pas plus que dans le sang ou le cerveau du Phacochère, du Porc-épic, etc., n'est venue confirmer cette hypothèse (Heisch, 1952; Geigy et Mooser, 1955).

L'explication de Zumpt nous paraît plus valable. Une tique, *O. zumpti* en l'occurrence, aurait véhiculé la Borrélie d'un rongeur sauvage à un rongeur commensal de l'homme. *O. moubata* de hutte se serait alors infecté sur les commensaux pour ensuite infliger la maladie à l'homme. Alors la Borrélie se serait adaptée exclusivement à *O. moubata.*

Néanmoins, cette élégante théorie soulève une série de questions dont les réponses permettront de la confirmer où de l'infirmer. Par exemple, il serait intéressant de savoir si *B. tillae* peut infecter l'homme et le singe. Quelle est la parenté biologique de cette Borrélie avec *B. obermeieri* ? *O. zumpti* peut-il transmettre *B. duttoni*? Le poux peut-il aussi transmettre *B. tillae*? Qu'en est-il de la sérologie de *B. duttoni*, *B. tillae* et *B. obermeieri*? De nombreux problèmes donc que nous nous proposons de mettre en chantier.

---

[1] On sait, en effet, qu'une variété écologique d'*O. moubata* vit communément dans les cavernes d'Oryctéropes (utilisés comme dortoirs par les Phacochères), ainsi que dans les terriers de Porc-épics, etc.

BIBLIOGRAPHIE

AESCHLIMANN, A. 1958. *Développement embryonnaire d'Ornithodorus moubata (Murray) et transmission transovarienne de Borrelia duttoni.* Acta trop. 15: 15-64.

GEIGY, R. et AESCHLIMANN, A. 1957. *Ratten als Reservoir von Borrelia duttoni.* Z. Tropenmed. Parasit. 8: 96-108.

— 1964. *Langfristige Beobachtungen über transovarielle Übertragung von Borrelia duttoni durch Ornithodorus moubata.* Acta trop. 21: 87-91

— und MOOSER, H. 1955. *Untersuchungen zur Epidemiologie des afrikanischen Rückfallfiebers in Tanganyika.* Acta trop. 12: 327-345.

— MOOSER, H. und WEYER, F. 1956. *Untersuchungen an Stämmen von afrikanischem Rückfallfieber aus Tanganyika.* Acta trop. 13: 193-225.

HEISCH, R.B. 1950. On *Spirochaeta dipodilli sp. nov. a Parasite of Pigmy Gerbils (Dipodillus sp.).* Ann. trop. Med. Parasit. 44: (3), 260-272.

— 1952. *First record of Ornithodoros erraticus* (Lucas) *from Uganda, with some speculations on the origin of Spirochaeta duttoni (Novy and Knapp).* East African med. J. 29: (11), 477-479.

SARASIN, G. 1959. *Zum Organotropismus der Spirochaete B. duttoni gegenüber der übertragenden Zecke.* Acta trop. 16: 218-243.

SCHUHARDT, V. and WILKERSON, M. 1951. *Relapse phenomena in rats infected with single spirochetes (B. recurrentis var. turicatae).* J. Bact. 62: 215-219.

ZUMPT, F. 1959. *Is the multimammate rat a natural reservoir of B. duttoni?* Nature 184: 793-794.

— 1962 *Eine neue Spirochaeten-Art, Borrelia tillae (Zumpt und Organ), aus Ornithodoros zumpti (Heisch und Guggisberg) und aus Wildratten in Südafrika.* Sonderdruck aus den Verhandlungen des XI. Intern. Kongresses für Entomologie, Wien, 1960 Bd. III, 107-108.

— and ORGAN, D. 1961. *Strains of spirochaetes isolated from Ornithodorus zumpti (Heisch and Guggisberg) and from wild rats in the Cape Province.* South Afr. J. lab. and clin. Med. 7: 31-35.